

它是谁? 来自哪里? 如何工作……

关于基因“剪刀”的五大谜题

Francisco Mojica 并非第一个看见 CRISPR 的人,但他可能是第一个为它着迷的人。他还记得 1992 年当他首次瞥见可能引发一场生物技术革命的这个微生物免疫系统的那一天。他在评估地中海嗜盐菌的基因测序数据,注意到 14 个不寻常的 DNA 序列,每个有 30 个碱基。它们的前后读数大致相同,每次重复 35 个碱基左右。很快,他看到更多的类似现象。Mojica 由此踏入该领域,使重复序列研究成为他在西班牙阿利坎特大学集中研究的对象。

这并不是一个受欢迎的决定。他的实验室连续数年没有收到资助。在会议上,Mojica 会抓住机会逮住他能找到的任何大人物追问他们如何看待这种奇怪的小序列重复。“别太关注重复。”他们总是这样警告他。“很多有机体中都有很多重复。我们知道它们已经有几年了,但并不知道它们中的大多数如何工作。”

今天,人们已经了解到更多关于这个团簇的信息,即定期中间短回文的重复序列,这使它获得了 CRISPR 的名字,并帮助 CRISPR-Cas 微生物免疫系统毁灭入侵细菌。但是尽管生物医学领域大多数人已经开始敬畏这一系统的运行机制,尤其是一种叫作 CRISPR-Cas9 的版本,因为它可被用于编辑基因,Mojica 和其他微生物学家仍对该系统的一些基础问题以及它如何运行感到困惑。它如何演变?如何影响微生物演化?为什么一些微生物在使用它,而另一些则没有?它是否在基础生物学上拥有一些其他仍待了解的优点?

它来自哪里?

诸如 CRISPR-Cas 的生物学优势非常明显。原核生物(细菌以及鲜有人知道的被称为古生菌的细胞生物)面临基因入侵者的不断冲击。病毒数量远超过原核生物,其数量比可达 10:1,并且每过两天就会杀死世界上半数的细菌。原核生物还会交换 DNA 的废弃物:质粒。它们可能是寄生的——通过使宿主的资源逐渐枯竭迫使其自杀,如果宿主在设法驱逐这个“搭便车”的分子。似乎没有什么地方是安全的:从土壤到海洋到地球上最不宜居的荒凉地方,基因入侵者无处不在。

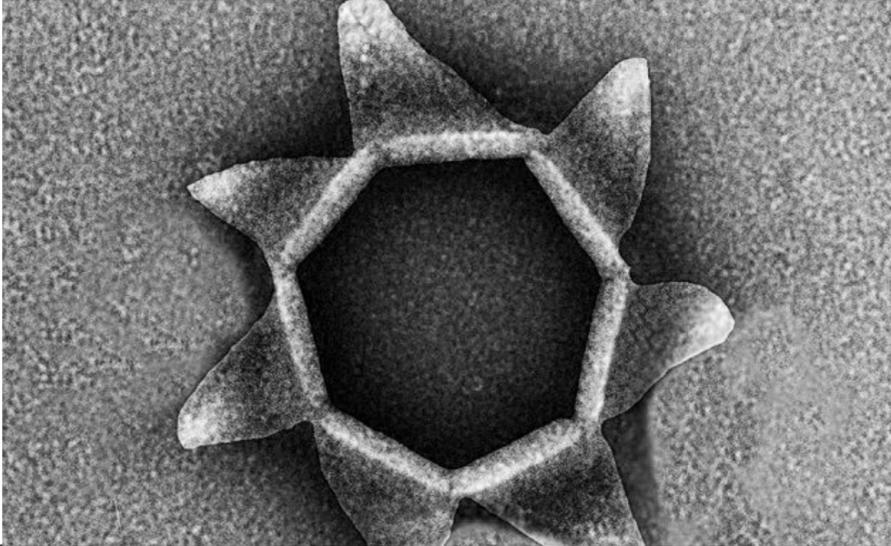
原核生物已经进化出大量武器来应对这些威胁。但这些防御有些迟钝。每个酶都经过规划以识别特定的序列,只有当一个微生物获得争取的基因副本,它才可能得到保护。CRISPR-Cas 更具活力。它能以类似于人类抗体在感染后提供长期免疫的方式适应和记住具体的基因入侵者。“当我们一开始听到这种假设,我们认为这种方式对于简单的原核生物可能过于复杂了。”荷兰瓦赫宁根大学微生物学家 John van der Oost 说。

Mojica 和其他人在看到 CRISPR 回文重复之间的空间中的 DNA 有时和病毒基因组中的序列相匹配时,他们推断了 CRISPR-Cas 的功能。从那时起,研究人员开始研制出与 CRISPR 相关联的特定蛋白,并在细菌和古生菌接触特定病毒或质粒之后,将这些间隔的序列添加到基因组中。来自于那些间隔区的 RNA 会指导其他 Cas 蛋白吞掉任何与该序列相匹配的入侵

“它是个非常了不起的工具。我想知道这个系统从头到尾如何工作。”

原核生物利用 CRISPR-Cas 抵抗在细胞上形成图中结构的病毒。

图片来源:Tessa



DNA 或 RNA。

它如何工作?

近年来,很多关于 Cas 蛋白补充间隔区的分子细节已经得到详细了解,但病毒 DNA 在化学上近似于宿主 DNA。在一个承载着 DNA 的细胞中,这些蛋白如何知道将哪个 DNA 添加到 CRISPR-Cas 记忆中?

这一赌注非常高:如果一个细菌添加了它本身 DNA 的一个片段,它会因为自动免疫进攻而自杀。陶宛维尔纽斯大学生物学家 Virginijus Siksnys 说,“这些酶是一把双刃剑。”

可能是由于细菌和古生菌种群能够吸收一定错误,美国北卡罗莱纳大学微生物学家 Rodolphe Barrangou 说。如果其他细胞能够在病毒攻击之后蓬勃发育,一些细胞的自杀可能并不重要。

实际上,当病毒潜入细菌生态系统时,通常 1000 万个细菌中会有一个细菌获得一个自我防御的间隔区。这一几率使得研究是什么驱动间隔区识别非常困难,同时了解为什么其他细胞失败之后另一个细胞会继续下去也很困难。“当它真正发生的时候,很难捕捉到那些细菌。”纽约洛克菲勒大学微生物学家 Luciano Marraffini 说。

它还可能做什么?

一些间隔区的起源是另一个谜题。到目前为止观测到的低于 3% 的间隔区与 DNA 数据库中任何已知的序列相匹配。

这反映了人们对病毒了解得多么少。大多数测序工作集中于那些感染者、牲畜或是庄稼。“我们对细菌的敌人知之甚少,特别是疯狂的古

生菌的敌人。”雅典佐治亚大学 RNA 生物学家 Michael Terns 说。

还有可能一些间隔区是已经不存在或者变异到不可分辨的病毒的鬼魂。但第三种可能性也是热门的研究领域。研究人员已经发现了 CRISPR-Cas 系统不仅是阻止基因入侵者的案例。在一些细菌中,CRISPR-Cas 成分会控制 DNA 修复、基因表达和生物膜的形成。它们还能决定一个细菌影响其他细菌的能力;嗜肺军团菌会导致退伍军人病症,它们一定拥有 Cas 蛋白 Cas2,从而感染其天然宿主变形虫。“一个主要的问题是有多生物在防御之外。”马萨诸塞大学医学院分子生物学家 Erik Sontheimer 说,“这是未来几年若干只‘靴子’要落地的领域。”

为什么只有一些微生物会用它?

无论 CRISPR-Cas 有什么其他的功能,很明显一些微生物使用它的几率超过另一些。超过 90% 的古生菌具有基于 CRISPR 的免疫,而经过测序的细菌仅有 1/3 拥有它,Koonin 说。并没有非原核生物,甚至是单细胞生物,被发现存在 CRISPR-Cas。

其中一种叫作纳古菌的古生菌就像一种寄生虫一样,寄生在接近沸水中的另一种古生菌身上,并分发了很多与能量制作相关的基因和常规的细胞管家。然而,在其 49 万 DNA 字母的说明书的小世界中,纳古菌在 CRISPR-Cas 系统上拥有约 30 个间隔区。“其一大部分基因致力于 CRISPR。”英国圣安德鲁斯大学分子生物学家 Malcolm White 说,“CRISPR 一定非常重要,然而我们并不知道其原因。”

这样的不同表明有一些关键的生态因素支持 CRISPR-Cas 系统,更重视病毒防御或其他

益处,而非细胞自杀的风险,埃克塞特大学彭林校园微生物学家 Edze Westra 说。极端环境似乎会支持 CRISPR-Cas 系统,但 Westra 强调,类似系统的频率在更适宜居住的栖息地的细菌中间也会呈现出一定变化。例如鸟类病原体——鸡毒支原体在其宿主从鸡转变为野雀时会丢掉其 CRISPR-Cas 装备。然而,为什么该系统在鸡身上有用,但在野雀身上无用,谁也说不清楚,Westra 说。

存在多少种 CRISPR-Cas 类型?

研究人员已经正式分辨出 6 种不同的 CRISPR 系统,包含 19 个亚种。“实际上我们只知道它们中一小部分在发挥作用。”Marraffini 说。

解开那些机制可能就会找到利用 CRISPR-Cas 系统的新生物技术。例如,备受科学家喜爱的 CRISPR-Cas9 属于 II 系统,该系统利用转录自间隔区序列的 RNA 分子导向一种酶,切断入侵病毒或 DNA 质粒。

系统 III 是自然界最常见的 CRISPR-Cas 系统,也是了解最少的系统。到目前为止,证据表明它们不是对 DNA 或 RNA 自身作出回应,而是对把 DNA 转译到 RNA 内部的过程作出回应。其他的系统可能也会突然出现,尤其是研究人员将他们的寻找目标扩展到培养基之外时,包括了来自环境 DNA 样本的基因测序。

对于 Mojica 来说,探索这种多样性并回答关于 CRISPR 系统的基本问题比它们引发的革命更吸引人。“我知道它是个非常了不起的工具。它妙极了。它可以被用于治疗疾病。”Mojica 说,“但这不是我的事。我想知道这个系统从头到尾如何工作。”

(晋楠编译)

科学线人

全球科技政策新闻与解析

克罗地亚科技部长身陷剽窃丑闻



Pavo Barisic

图片来源:Ivo Cagali/PIXSELL

在一桩剽窃丑闻中,克罗地亚最高研究伦理委员会(CESHE)与该科技部部长发生了冲突。在该委员会发现后者存在抄袭其他学者作品后,这位部长拒绝辞职。

2016 年 10 月,斯普利特大学哲学家 Pavo Barisic 出任克罗地亚科技部部长。但不久,Barisic 就遭到指控:其一篇发表于 2008 年的综述论文涉嫌复制另一学者的文章,但没有标明出处。

实际上,早在 2011 年就有另外 4 位哲学家提出了这一指控,但 CESHE 表示将会调查。今年 1 月 9 日,CESHE 的报告在正式发布前被泄露给了当地媒体。报告显示,Barisic 文章中的补充说明部分引用了美国国际关系专家 Stephen Schlesinger 的博客,但没有标明出处。

另外,该文章被指还存在其他问题,例如,Barisic 描述了已故美国政治学家 Samuel Huntington 的观点,但也没有标明。但该委员会没有明确指出这是否属于剽窃。

之前,Barisic 坚称自己没有犯错。这位科学部部长在 2011 年指出,斯普利特大学的一个伦理委员会表示这些指控不实。2016 年 12 月,时任 CESHE 主席的 Vlatko Silobric 辞职,作为对政府施压终结该案例的反应。

不过,报告一出,Barisic 就改口称自己从 Schlesinger 博客摘录了部分内容,但没有标明出处,并对此表示歉意。但他还表示,这一错误仅仅是“排版错误”,不需要自己辞职。

虽然,CESHE 无权进行制裁,但要他辞职的呼声日渐高涨。2012 年至 2014 年任克罗地亚科技部副部长的里耶卡大学工程师 Sasa Zelenika 表示,Barisic 在这一事件上再三将公众向错误方向引导。“这位部长当然要辞职。”他说。

出生于克罗地亚的德国法兰克福大学生物化学家 Ivan Dikic 在一份写给克罗地亚总理 Andrej Plenkovic 的公开信中表示,Barisic 的行为表明他并非领导该国科技部的最佳人选。(张章)

美放弃使用人类研究样本有争议提议



被提议的人类样本使用新规则成为争议源头。图片来源:EdTech

近日,美国政府取消了一个有争议的新规定提案,研究人员认为,这一规定让研究中患者血液和组织样本的使用更加困难。最终发布的普遍法则删掉了这些规定,但也保留了一些变化。

反对相关生物样本规定的生物医学和大学研究团体如释重负。“我们非常高兴。”美国大学联盟生物医学研究政策分析师 Lizbet Boroughs 说。具有 26 年历史的普遍法则主要保护参与联邦资助研究的志愿者。健康与人类服务部(HHS)和其他机构在 2011 年对医学研究的诸多内容进行了调查和整改,例如电子医疗档案的使用和隐私协议等。

而 2015 年 9 月发布的建议条款包含了许多没有争议的改进,例如,知情同意表更简化和低风险研究享有豁免权。但该提案还为研究人员敲响警钟,因为它为研究用血液、尿液、组织和其他人类样本施加新规定。目前,这些样本在去除姓名和其他描述性信息后,能在未得到捐献者同意的情况下用于新研究。但新规定要求使用此类去识别样本也需要获得知情同意。相关机构也将需要设立系统追踪这些同意信息。

这一变化还将带来巨大成本,很多小医院和诊所可能会停止为研究人员提供样本。批评者还担心,保留样本和知情同意书将产生新的隐私风险。美国国家科学、工程和医学院的一个委员会督促政府取消这条内容。

最终,HHS 和其他 15 家机构发布了 543 页的正式版本,不包含新的生物样本规定。

不过,参与编制修改条款的美国国立卫生研究院前官员 Kathy Hudson 表示,她仍然认为知情同意“是正确和应受尊重的事情”,但普遍法则无法帮助达成这一目标。(唐一尘)

“媒人”帮我找经费

美推出高效经费搜索引擎



Katharine Corriveau, Angela Braren 和 Gauri Manglik(从左到右) 图片来源:Steven Chan/Y Combinator

域带来重大影响。”前农业学家、Instrumentl 首席运营官 Corriveau 说。

早期用户十分有热情,并认为该网站类似于音乐搜索引擎。“这种模式太棒了。”当前用户、洪堡州立大学 Erika Wright 说。作为一个推荐引擎,Instrumentl 能“学习”用户的偏好,并相应地持续建议进行提炼。Wright 通常会搜索 grants.gov 等网站或 SPIN 等数据库,为洪堡州立大学的研究人

员寻找经费项目。“Instrumentl 能将需要大量时间和精力地搜索工作自动化。”她说。

去年 11 月底,华盛顿大学生态学博士 Lauren Satterfield 注册了一个免费账户。只要 5 分钟,Instrumentl 就将她的人口统计学特征以及科学背景、特定研究项目和经费要求等信息整理完毕。在 24 小时内,Instrumentl 就为她发送了 40 个匹配的经费项目。

“凑足一个经费列表就很难了,更何况 Instrumentl 能给你一个跟自己匹配的经费单。这样就方便我进行筛选。”研究狼和美洲狮互作作用的 Satterfield 说。

每个简介包括经费项目的要点——提供者、截止日期、项目概况、资格和选择权等。用户可选择“保存”“不确定”或“不感兴趣”,而 Instrumentl 将在之后的搜索中纳入这些信息。

目前,Instrumentl 服务于非人类生物科学领域(包括动物学、植物学和海洋科学)、生态学、进化、农业、土壤科学、地球科学、古生物学和环境科学,但 Braren 表示,在未来将为所有领域的研究人员提供帮助,从自然科学到人文社会科学。该数据库包含 7000 个经费机会,主要来自美国资助者。Instrumentl 服务的目的是让科研过程更加流畅,为研究人员提供一个实用的应用。

加州大学伯克利分校研究发展主管 David Trinkle 表示,与其他类似的数据库相比,Instrumentl 输出的信息更容易理解,因此也更能提高研究人员效率。而且,Instrumentl 的“新方法”让研究人员能有申请非传统经费的机会。

不过,科罗拉多大学神经学助理教授 Zoe Donaldson 表示,该网站提供的信息缺乏有关功率和优先级等信息。Donaldson 尚未使用该网站,她选择的是能提供免费经费信息的 Trialect 服务器。

无论如何,Wright 表示,Instrumentl 能节省研究人员时间,提高获得经费的机会。Wright 建议研究人员使用免费账户,试用该产品,但现在有多少研究者将转移到付费账户还不清楚。(唐一尘编译)

当 Angela Braren 在 2012 年遇见 Katharine Corriveau 时,她们注意到彼此存在许多共同点。她们都有未完成研究,而且有共同原因:她们将更多时间花在筹集经费而非做研究上。

通过分享挫折,她们迅速形成一个共同愿景。这两位女科学家联合计算机学家 Gauri Manglik——在美国加利福尼亚州旧金山启动了 Instrumentl——这个基于网页和邮箱的服务器,能为研究人员提供适合的经费资助信息。

最初,研究人员需要在两周的试用期过后,付费订阅相关信息,但软件升级后,从去年 11 月 28 日起,该网站也有了免费账户。前渔业生态学家、Instrumentl 首席执行官 Braren 表示,从那时到现在,每周约有 1000 位科学家注册。该软件有 1 万多名用户,其中大部分是免费账户。“我们的责任是发掘、推荐那些可能为研究助力的科学津贴,有点像寻找科研津贴的火种。”Braren 说。

Instrumentl 产品经理 Manglik 则指出,目前他们正致力于解决研究人员的一大难题:科学家一半的精力被浪费在寻找研究津贴上,这令人难以置信,同时也意味着目前人们只用了一半的力气在发展科技。而且,很多研究人员只是草率地浏览国家经费资助机构网页和谷歌,因此错过不少申请机会,他们需要更好的工具搜索和筛选各种信息。

据悉,科学家只需在 Instrumentl 上录入研究项目的具体细节,剩下的工作诸如网上信息搜索、数据库梳理等都可以交给 Instrumentl。该网站利用电子邮件、仪表盘等功能提醒科学家即将到来的截止日期,同时会向用户弹出最新的募款渠道。“我们认为 Instrumentl 会为经费领